

щитовидной железы в рамках скрининга выявлены в (41,6% 99% ДИ (40,6-42,6%)) случаев, без изменений – (58,4%; 99% ДИ (57,4%-59,3%)).

Литература

1. Eddy, D. M. Common Screening Tests / D. M. Eddy // Journal Annals of Internal Medicine. – 1991. – Vol. 129. – P. 179-201.
2. Screening for thyroid disease / M. Helfand [et. al.] // Journal Annals of Internal Medicine. – 1998. – Vol. 129. – P. 144-158.
3. Дрозд, В. М. Ультразвуковое исследование щитовидной железы у детей, подвергшихся воздействию радионуклидов: метод. рекомендации / В. М. Дрозд [и др.] – Мн., 1992. – С. 1-12.
4. Лущик, М. Л. Дифференциальная диагностика узловых образований щитовидной железы / М. Л. Лущик // Здоровоохранение. – 2006. – № 8. – С. 40-43.
5. Thyroid sonography: current applications and future directions / F. N. Tessler [et al.] // A. J. R. Roentgenology. – 2009. – Vol. 173, № 2. – P. 437-443.

ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ В ДОЗЕ 1 ГР НА СОСТОЯНИЕ КАЛЬЦИЕВОГО ОБМЕНА И СОДЕРЖАНИЕ РАЗНЫХ ФОРМ ТРОМБОЦИТОВ НА 3-и И 10-е СУТКИ ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ

*Пархимович О. Г.¹, Буланова К. Я.¹, Лобанок Л. М.²,
Бичан О. Д.³, Милевич Т. И.⁴*

¹ Кафедра биохимии и биофизики

УО «Международный государственный экологический институт
имени А.Д. Сахарова Белорусского государственного университета»

² «Белорусский государственный медицинский университет»

³ «Белорусский государственный университет»

⁴ «Институт радиобиологии НАН Беларуси», Минск, Беларусь

Актуальность. Кровь относится к одной из наиболее чувствительных систем к действию ионизирующей радиации. Система крови функционально объединяет другие физиологические системы организма, поддерживая постоянство внутренней среды и обеспечивая обмен веществ между тканями и клетками. Поскольку заболевания сердечно-сосудистой системы являются наиболее часто встречающимися последствиями облучения ионизирующей радиацией, изучение элементов крови и состояния их функций, позволяющих выявлять предпатологические состояния организма, представляет актуальную задачу [1].

Тромбоциты являются безъядерными форменными элементами крови, основная функция которых – это участие в процессе гемостаза. Снижение агрегационной способности тромбоцитов приводит к кровоточивости, что характерно для отдаленных эффектов радиации, а повышение – к увеличению риска тромбообразования, нарушению микроциркуляции [2, 3].

В механизмах повышения и уменьшения агрегационной способности тромбоцитов ведущая роль принадлежит увеличению либо, соответственно, снижению в цитоплазме концентрации свободных катионов кальция [4].

Изучение молекулярных механизмов регуляции уровня цитоплазматического кальция позволит выявить причины нарушения агрегационной способности тромбоцитов, их гибели в постлучевой период и разработать способы коррекции.

Цель. Исследование механизмов кальциевого обмена в тромбоцитах крыс и содержания разных форм тромбоцитов на 3-и и 10-е сутки после облучения в дозе 1 Гр.

Материалы и методы исследования. Эксперименты проводились на половозрелых белых крысах-самцах (3-6-месячного возраста). Животные брались в опыт на 3 и 10-е сутки после γ -облучения.

Крыс облучали на гаммаустановке «ИГУР» в дозе 1 Гр (мощность дозы 0,62 Гр/мин, в течение двух минут).

Для исследования гематологических показателей кровь брали из сердца наркотизированных крыс, прокалывая иглой с трубкой, предварительно промытой раствором ЭДТА (15%), отбирали по 100 мкл образца. Измерения показателей проводили с использованием гематологического анализатора фирмы Technicon Н-1.

Для получения обогащенной тромбоцитами плазмы кровь после вскрытия грудной клетки животного брали пункцией левого желудочка, прокалывая его иглой с силиконизированной трубкой, и собирали в пластмассовые пробирки. Свертываемость крови предупреждалась 3,8% раствором цитрата натрия в соотношении по объему 1:9 (цитрат: кровь).

Обогащенную тромбоцитами плазму (ОТП) получали центрифугированием при 700 g в течение 5 минут. Затем ОТП центрифугировали (745 g, 8 минут), тромбоциты ресуспендировали в *HEPES-буфер* без Ca^{2+} (рН 6,5), еще раз центрифугировали (745g, 8 мин.).

После осаждения тромбоциты ресуспендировали в *HEPES-буфере* без Ca^{2+} (рН 7,4). Для определения концентрации кальция использовали флуоресцентный зонд Fura-2/AM. Полученные тромбоциты

инкубировали с Fura-2/AM (конечная концентрация 2,5 мкмоль/л), осаждали центрифугированием при 745g, 8 мин, суспендировали в *HEPES-буфер без Ca²⁺* (pH 7,4) и доводили концентрацию клеток до 2,5·10⁹кл/мл. Исследование кинетики изменения интенсивности флуоресценции нагруженных Fura-2/AM тромбоцитов проводили на длине волны 510 нм при длинах волн возбуждения 340 нм и 380 нм с использованием спектрофлуориметра СМ 2203«СОЛАР» (Минск, Беларусь). Концентрация Ca²⁺ рассчитывается по формуле:

$$[Ca^{2+}] = K_d \frac{R_{\max 380}}{R_{\min 380}} \frac{F - F_{\min}}{F_{\max} - F},$$

где K_d – константа диссоциации комплекса Fura-2/AM с кальцием;

$$F = \frac{R_{340}}{R_{380}}$$

– текущее отношение флуоресцентных сигналов;

F_{\min} – то же отношение в растворе с низкой концентрацией Ca²⁺;

F_{\max} – то же отношение в растворе с высокой концентрацией Ca²⁺ (max и min при добавлении тритона (10%) и ЭГТА (100 мкмоль/л), соответственно);

K_d равняется 224 нмоль/л.

Результаты и их обсуждение. Установлено, что облучение в дозе 1 Гр не повлияло на количество тромбоцитов в периферической крови крыс. Количество тромбоцитов в контрольной группе составило 883±42,9×10³/μl, а на 3-и и 10-е сутки – 897±6,84 и 723±21,2×10³/μl, соответственно.

На 3-и сутки после облучения наблюдалось уменьшение среднего объема тромбоцитов (5,6±0,19 fl в контрольной группе и 4,8±0,21 fl у крыс после облучения) и увеличение ширины распределения тромбоцитов (49,1±0,65% и 57,1±1,23% в контроле и после облучения, соответственно), что указывает на возможное накопление старых форм.

На 10-е сутки постлучевого периода отмечается снижение величины тромбокрита, т.е. процентного содержания этих клеток в единице объема плазмы крови. В контроле величина тромбокрита составила 0,50±0,03% и 0,42±0,02% у крыс после облучения.

Также на 3-и сутки после облучения в тромбоцитах крыс наблюдалось увеличение базального уровня ионов кальция как бескальциевой (100 мкМ ЭГТА), так и в кальцийсодержащей среде (1 мМ). Базальный уровень кальция в бескальциевой среде у контрольных животных составил 44,2±4,6 нмоль/л, у облученных – 85,9±5,2 нмоль/л.

В кальцийсодержащей среде – $74,9 \pm 11,8$ нмоль/л и $181,7 \pm 0,5$ нмоль/л, соответственно.

На 10-е сутки после облучения в бескальциевой среде отмечается снижение базального уровня ионов кальция в цитоплазме тромбоцитов и его нормализация в кальций-содержащей среде. Базальный уровень ионов кальция в бескальциевой среде у контрольных и облученных крыс составил $34,2 \pm 6,6$ нмоль/л и $49,2 \pm 7,2$ нмоль/л, соответственно. В кальций-содержащей среде – $52,9 \pm 13,8$ нмоль/л в контроле и $89,4 \pm 12,3$ нмоль/л после облучения.

Увеличение концентрации ионов кальция в тромбоцитах на третьи сутки также наблюдалось при действии физиологических индукторов агрегации – АДФ (20 мкМ) и тромбина (0,2 ед/мл) в присутствии 1 мМ CaCl_2 . Уровень кальция при действии АДФ в контроле составил $111,4 \pm 5,8$ нмоль/л, а после облучения – $289,5 \pm 11,7$ нмоль/л, при действии тромбина – $383,2 \pm 15,2$ и $561,9 \pm 12,1$ нмоль/л соответственно.

Выводы:

1. Облучение в дозе 1 Гр не повлияло на количество тромбоцитов в периферической крови, но стимулировало уменьшение среднего объема и увеличение ширины распределения тромбоцитов на третьи сутки после облучения, что указывает на возможное накопление старых форм. На 10-е сутки постлучевого периода снижается величина тромбокрита.

2. На третьи и 10-е сутки после облучения увеличивается базальный уровень ионов кальция в тромбоцитах облученных крыс как в бескальциевой, так и в кальций-содержащей среде.

3. При действии физиологических индукторов агрегации тромбоцитов – АДФ и тромбина – также отмечается увеличение концентрации ионов кальция в тромбоцитах облученных крыс.

Литература

1. Марковчин, А. А. Физиологические особенности тромбоцитов / А. А. Марковчин // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 6. – С. 25-30.
2. Методы исследования и клиническое значение агрегации тромбоцитов. Фокус на спонтанную агрегацию / В. И. Козловский [и др.] // Вестник ВГМУ. – 2013. – № 4. – С. 79-91.
3. Calcium signaling in human platelet aggregation mediated by platelet activating factor and calcium ionophore / H. Rasheed [et al.] // Journal of biological sciences. – 2004. – № 4(2). – P. 117-121.
4. Platelet morphology, biochemistry, and function // J.A. Ware [et al.] // Hematology. – 1995. – № 5. – P. 1161-1201.